

修 士 論 文 の 和 文 要 旨

大学院 電気通信学研究科		博士前期課程	電子物性工学専攻																		
氏 名	矢内久陽		学籍番号 0234043																		
論 文 題 目	高度好熱菌GMP synthetaseのX線結晶構造解析																				
<p>要 旨</p> <p>< 序 ></p> <p>プリンヌクレオチド生合成系（以下プリン生合成系）は、全部で14の反応から成っており、その中には類似反応が複数存在している。従って類似反応を触媒する酵素間の立体構造を比較することにより、共通の遺伝子から派生したかどうかを検証し、プリン生合成系の遺伝子編成に関して情報を得ることができるかも知れない。</p> <p>今回わたしが取り組んだGMP synthetase (GuaA)は、プリン生合成系においてxanthosine 5'-monophosphate (XMP)からGMPを合成する反応を触媒している。大腸菌酵素の研究から、GuaAにはATP pyrophosphataseドメインとglutamine amidotransferaseドメインの二つの酵素活性ドメインが存在すると考えられている。プリンヌクレオチド生合成経路には、glutamine amidotransferase活性を持つ酵素として、GuaA以外に、amidophosphoribosyltransferase (PurF)とFGAR amidotransferase I (PurQ)の2つが存在し、これら3つの酵素の立体構造を比較することを目標に、GuaAの立体構造決定に取り組んだ。</p> <p>< 実験方法 ></p> <p>T.thermophilus HB8由来 GuaAを、ハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化を行った。次いで、SPRING-8理研ビームラインにおいて、クライオ条件下でX線回折データ収集を行った。MAD法によって位相を決定し、構造精密化を行った。</p> <p>< 結果 ></p> <p>(1)T.thermophilus HB8 GuaAの結晶化に成功した。結晶化条件は以下の通りである。</p> <p>NativeおよびSe-Met置換体 1.6M NaCl, 0.1M 酢酸ナトリウム(pH4.6)</p> <p>Nativeと基質アナログ (DON, AMP-PNP) との共結晶 1.6M NaCl, 0.1M 酢酸ナトリウム(pH4.6), 4mM MgCl₂</p> <p>(2)データ収集を行ったところ、以下のような結果が得られた (dmin, 空間群, 格子定数)。</p> <table border="0"> <tr> <td>Native</td> <td>2.1</td> <td>, C2, a=141.5</td> <td>, b=114.7</td> <td>, c=159.7</td> <td>, $\beta=94.0^\circ$</td> </tr> <tr> <td>Se-Met置換体</td> <td>2.1</td> <td>, C2, a=140.3</td> <td>, b=114.6</td> <td>, c=158.1</td> <td>, $\beta=94.5^\circ$</td> </tr> <tr> <td>共結晶</td> <td>2.3</td> <td>, C2, a=140.7</td> <td>, b=114.9</td> <td>, c=158.51</td> <td>, $\beta=96.5^\circ$</td> </tr> </table> <p>(3)位相を決定し、構造精密化を行った結果、非対称単位中にGuaA dimerが2つ含まれていることがわかった。</p> <p>< 考察 ></p> <p>過去に得られていた大腸菌GuaAの構造は基質が結合したモデルであった。そのため今回得られたT.thermophilus HB8 GuaAのNative構造は基質結合反応に伴う酵素の動きを予想する上で重要であると思われる。今後さらなる構造の精密化により、GuaAの酵素反応にともなう立体構造メカニズムが明らかになるだろう。</p>				Native	2.1	, C2, a=141.5	, b=114.7	, c=159.7	, $\beta=94.0^\circ$	Se-Met置換体	2.1	, C2, a=140.3	, b=114.6	, c=158.1	, $\beta=94.5^\circ$	共結晶	2.3	, C2, a=140.7	, b=114.9	, c=158.51	, $\beta=96.5^\circ$
Native	2.1	, C2, a=141.5	, b=114.7	, c=159.7	, $\beta=94.0^\circ$																
Se-Met置換体	2.1	, C2, a=140.3	, b=114.6	, c=158.1	, $\beta=94.5^\circ$																
共結晶	2.3	, C2, a=140.7	, b=114.9	, c=158.51	, $\beta=96.5^\circ$																